des propriétés morphologiques particulières, concomitantes à l'appariement des chromosomes. Nous renonçons pour le moment à tout essai d'interprétation que rend prématuré l'état insuffisant de nos connaissances dans le domaine qui nous préoccupe.

## AUTEURS CITÉS


Fawcett, D. W. 1956. *The fine structure of chromosomes in the meiotic prophase of vertebrate spermatocytes.* Journ. Biophysic. and Biochem. Cytol. 2: 403.

Moses, M. J. 1956. *Chromosomal structures in crayfish spermatocytes.* Journ. Biophysic. and Biochem. Cytol. 2: 215.

— 1956. *Studies on nuclei using correlated cytochemical, light and electron microscope techniques.* Journ. Biophysic. and Biochem. Cytol. 2: 397.

— 1958. *The relation between the axial complexe of meiotic prophase chromosomes and pairing in a salamander (Plethodon cinereus).* Journ. Biophysic. and Biochem. Cytol. 4: 633.

Ryter, A. et E. Kellenberger. 1958. *L'inclusion au polyester pour l'ultramicrotomie.* Journ. Ultrastructure Research 2: 200.


---

## N° 14. **E. Hadorn** und **I. Walker**, Zürich. — *Drosophila* und *Pseudeucoila.* I. Selektionsversuche zur Steigerung der Abwehrreaktion des Wirtes gegen den Parasiten [1] (Mit 5 Textabbildungen.)

Zoologisch-vergl. anatomisches Institut der Universität Zürich.

### Einleitung

Die hier mitzuteilenden Ergebnisse von Selektionsversuchen schliessen an frühere Arbeiten unseres Institutes an. Zunächst wurde von Jenni (1951) untersucht, wie *Drosophila melanogaster* von der Schlupfwespe *Pseudeucoila bochei* parasitiert wird. Dabei zeigte sich, dass trotz häufiger Überinfektion sich in einem Wirtsorganismus nie mehr als eine Wespenlarve zur Imago entwickelt.

[1] Ausgeführt mit Unterstützung der Karl Hescheler-Stiftung.

Schlegel-Oprecht (1952) fand anschliessend, dass einzelne Wildstämme von *Drosophila* die Fähigkeit haben, die Wespenembryonen einzukapseln und damit unschädlich zu machen. Das Ausmass dieser Abwehrreaktion erwies sich als genetisch festgelegt, d. h. als eine stammesspezifische Eigenschaft. Die Ergebnisse von Kreuzungsversuche führten zur Annahme, dass die Abwehrfähigkeit polygenisch bestimmt sein müsse.

Die Abwehrreaktion geht von melanisierenden Lymphocyten aus. In vielen Fällen bleiben diese Zellen gruppenweise verklebt in der Körperhöhle liegen, ohne dass es zur Einkapselung des Parasiten kommt. Diese erfolglose Form der Abwehr bezeichnen wir als „Pigmentreaktion". Eine erfolgreiche Abwehr ist nur dann verwirklicht, wenn die melanisierenden Blutzellen eine fest schliessende Kapsel um das Parasitenei herum bauen. Eine eingehende Analyse der an der Abwehrreaktion beteiligten Vorgänge wurde von Walker (1959) durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass über Erfolg und Nichterfolg der Abwehr nicht nur der Genotypus des Wirtes, sondern auch der Genotypus des *Pseudeucoila*-Stammes entscheidet.

In der freien Natur kommen Wirt und Parasit nebeneinander vor. Offenbar stehen die Populationen der beiden Organismen in einem gewissen Gleichgewicht, das sich, wie wir jetzt wissen, durch genetische Faktoren des Wirtes wie des Parasiten nach der einen oder anderen Richtung verschieben kann. Sowohl die Abwehrfähigkeit des Wirtes wie die Angriffsfähigkeit des Parasiten dürfen als adaptive Eigenschaften aufgefasst werden, die durch Wirkungen der Selektion aufgebaut und verändert werden. Daher erschien es uns sinnvoll, zu versuchen, eine Steigerung der Abwehrreaktion von *Drosophila* durch ein geeignetes Selektionsexperiment im Laboratorium zu erreichen. Wird eine Fliegenpopulation von *Pseudeucoila* parasitiert, so können die einen Individuen den Wespenkeim erfolgreich abkapseln, während die anderen dem Parasiten erliegen. Genotypen mit schwacher oder fehlender Abwehrfähigkeit müssten bei genügend intensiver Parasitierung aus der Population verschwinden. Andererseits wäre zu erwarten, dass in einer Generationenfolge die Abwehrfähigkeit ansteigen würde, falls zur Weiterzucht nur solche Fliegen verwendet werden, die den Parasiten erfolgreich abgekapselt haben. Die vorliegende Mitteilung gibt die ersten Ergebnisse eines derartigen Selektionsversuches.

## Material und Methode

Als Wildstamm von *Drosophila melanogaster* verwendeten wir Hindelbank (Hi; Bern, Schweiz) und Luxor (Lx; Aegypten). Für diese beiden Stämme ergaben sich extreme Unterschiede in der Abwehrfähigkeit gegen *Pseudeucoila bochei* (Walker, 1959). Ein typisches Versuchsergebnis ist in Abbildung 1 dargestellt. Ferner wurden die Hybriden der beiden reziproken Kreuzungen (Hi × Lx und Lx × Hi) in die Selektionsversuche einbezogen. Zur Parasitierung benutzten wir ausschliesslich die Wespen des Wildstammes Erlenbach (E), der gegen Kapselbildung nicht resistent ist.

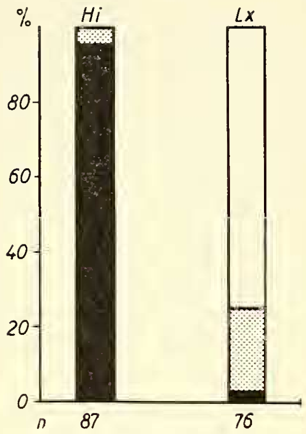



Abb. 1.

Reaktionsraten der Stämme Hindelbank (Hi) und Luxor (Lx). Leer: ohne Reaktion; punktiert: pigmentbildende Larven; ausgefüllt: kapselbildende Larven. n: Anzahl der untersuchten parasitierten Larven.

Für die Selektionsexperimente standen somit die vier Linien Hi; Lx; Hi × Lx und Lx × Hi zur Verfügung. Von jeder Linie wurden drei Unter-Linien getrennt geführt. Die Untersuchung erstreckte sich über 12 Selektionsgenerationen (Dezember 1958 bis August 1959). Von jeder Unterlinie und in jeder Generation wurden 150 Larven des mittleren 2. Stadiums während 1—3 Stunden einer Gruppe von 10—20 Wespen zur Parasitierung überlassen. Bis zur Infektion hielten wir die Larven bei 25° C; nachher bei 20° C, da diese Temperatur für eine erfolgreiche Kapselbildung optimal ist (Walker, 1959). Von jeder parasitierten Kultur sezierten wir 30 Puppen, um an dieser Stichprobe den Parasitierungsgrad festzustellen (z. B. 25/30). Wir erhalten so für jede Linie und jede Generation eine Information, die sich auf 90 Individuen stützt. Sind die Puppen infiziert, so ergeben sich vier Kategorien (Abb. 2): 1. Wirte ohne irgendwelche Reaktion auf den anwesenden Parasiten, der um diese Zeit als kleine Larve inmitten der *Drosophila*-Puppe gefunden wird. 2. Wirte, die zwar Pigment,

aber daraus keine Kapseln bilden. 3. Wirte, die Kapseln bilden, aber trotzdem nicht erfolgreich sind, entweder weil bei Überinfektion nicht alle Parasiten eingekapselt sind, oder weil es einem Parasiten gelingt, sich aus der Kapsel herauszuarbeiten (leere Kapseln). 4. Wirte, die einen oder mehrere Parasiten erfolgreich einkapseln und sich daher trotz Infektion zu normalen Fliegen etnwickeln.

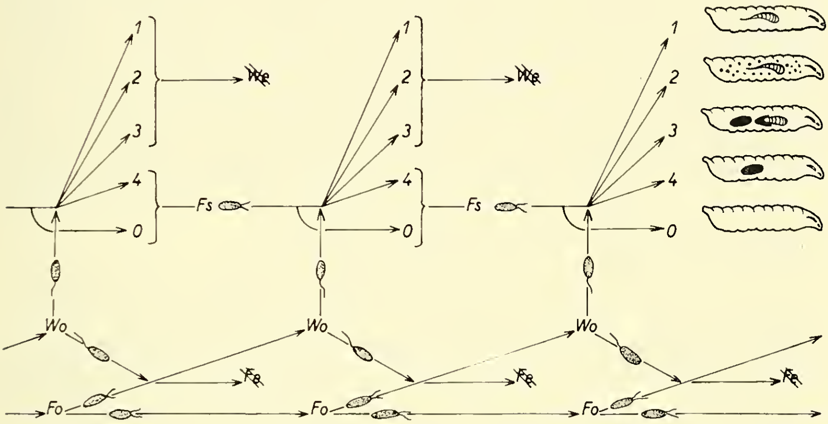



Abb. 2.

Schema der Zucht- und Selektionsmethode. Fo = Fliegen ohne Selektion; Fe (durchgestrichen) = eliminierte Fliegen aus den Stammzuchten der Wespen; Fs = Fliegen unter Selektion; Wo = Wespen ohne Selektion; We (durchgestrichen) = eliminierte Wespen aus Fs-Zuchten. Reaktionsstufen der parasitierten Drosophila-Larven (rechts aussen): 1 = keine Reaktion, 2 = nur Pigment, 3 = nicht erfolreiche Kapseln, 4 = erfolgreiche Kapselbildung, 0 = nicht parasitierte Larven aus infizierten Kulturen. Eier von *Drosophila* mit zwei Filamenten, von *Pseudeucoila* mit einem Filament.

Auf Grund dieser vier Klassen werden folgende Grössen definiert: Kapselrate = % Wirtslarven, die Kapseln bilden; Pigmentrate = % Wirtslarven, die nur Pigment bilden; Kapselrate plus Pigmentrate wurden zur Gesamtrate zusammengefasst. Da meist ein Teil der Wirtslarven mit mehreren Parasiteneiern belegt ist, ergibt sich als Mass der Überinfektion die Anzahl der Parasiten pro infizierte Wirtslarven (z. B. 35/25).

Die Anzahl der geschlüpften Fliegen und Wespen einer Unterlinie ergibt die Gesamtschlüpfrate. Falls jede angesetzte Drosophilalarve entweder eine Fliege oder eine Wespe liefern würde,

so müssten pro Unterlinie (Zuchtschale) 120 Imagines schlüpfen. Die Gesamtschlüpfrate (z. B. 100/120) ist somit ein Mass für die Güte der Zuchtbedingungen bezw. die Vitalität der Drosophilalinie oder des Wespenstammes. Dabei ist zu unterscheiden zwischen dem Anteil der Fliegen und dem Anteil der Wespen an der Gesamtrate.

In der Abbildung 2 ist das Zuchtverfahren dargestellt. Die zur Infektion verwendeten Wespen (Wo) wurden in üblicher Weise gezüchtet und zwar auf dem schwach reaktionsfähigen Fliegenstamm Luxor (Fo), der unter keinem Selektionsdruck stehen konnte, da nie mehr als eine Fliegengeneration parasitiert wurde. Die „erfolgreichen" Fliegen aus infizierten Kulturen wurden nie zur Weiterzucht verwendet (Fe; durchgestrichen). Ebenfalls benutzten wir niemals „erfolgreiche Wespen" (We, durchgestrichen), die aus Fliegenpuparien der Selektionslinie schlüpften.

Wie die Abbildung 2 zeigt, stammen die Fliegen der Selektionslinie (Fs) entweder aus Larven, die den Parasiten erfolgreich einkapseln konnten (4) oder aus Larven, die aus irgendwelchen Gründen von den Wespen nicht infiziert wurden (0). Eine direkte Zuteilung der geschlüpften Fliegen zur Kategorie 4 bezw. 0 ist nicht möglich. Doch können wir auf Grund der Sektionskontrolle extrapolierend den Anteil der „erfolgreichen Fliegen trotz Infektion" nach folgender Formel abschätzen: Erfolgreiche „parasitierte" Fliegen = Total der Fliegen — (1 — Parasitierungsgrad) × Total der (Fliegen + Wespen). Beispiel: Eine parasitierte Zuchtschale liefert aus 120 Larven 20 Wespen und 80 Fliegen. In der Stichprobe wurde ein Parasitierungsgrad von 24/30 gefunden; daher erfolgreiche parasitierte Fliegen = 80 — (1 — 24/30). 100 = 80 — 0.2.100 = 60. Da Fliegen aus parasitierten und nicht parasitierten Larven nicht zu unterscheiden sind, wurden alle geschlüpften Fliegen einer Zuchtschale (im Beispiel 80 Individuen) für die Eiablage der nächsten Generation verwendet (Fs in Abb. 2). Von ihren Nachkommen wurden wiederum 150 Larven in eine Schale übertragen und von neuem der Parasitierung durch Wo-Wespen ausgesetzt.

Um einen allfälligen Selektionserfolg sicherstellen zu können, war es nötig, geeignete Kontrollen zu führen: Vor Beginn des Selektionsexperimentes wurde daher von den vier Linien je eine Kontrollinie abgezweigt, die ohne Parasitierung parallel zu den

12 Selektionsgenerationen geführt wurde. Von der 6. Generation an wurde in frei gewählten Abständen die Abwehrreaktion dieser Kontrollen geprüft; dabei verwendeten wir pro Stichprobe wiederum 150 Larven, von denen 30 seziert wurden.

Da sich in den Selektionslinien im Verlaufe des Experimentes ein Vitalitätsabfall geltend machte, wurde zwischen der 11. und 12. Selektion während zweier Generationen mit der Infektion ausgesetzt. Die 12. Selektionsgeneration (Abb. 3—5) entspricht daher der 14. Zuchtgeneration. Für den Abschluss des Experimentes (11. und 12. Selektionsgeneration) unterteilen wir die drei Unterlinien nochmals in zwei Zweige. Die Zahlenwerte beziehen sich daher hier auf je 300 Larven pro Linie, wobei die Sektionskontrolle an je 60 Individuen durchgeführt wurde.

## Ergebnisse

Da sich zwischen den drei Unterlinien einer Selektionslinie keine wesentlichen Unterschiede zeigten, sind nachfolgend ihre Zahlenwerte zusammengefasst.

Betrachten wir zuerst das Verhalten der Gesamtrate (entweder nur Pigment oder Pigment- und Kapselbildung (Abb. 3). Bei Hi reagieren während der ganzen Selektionsdauer fast stets alle Individuen. Einzig in der 4. Generation zeigt sich ein bedeutungsloser leichter Abfall. Sämtliche Kontrollen zeigten ebenfalls eine Rate von 100% (in Abb. 3 nicht eingetragen).

Für Lx wurde in der ersten Selektionsgeneration der stammesspezifische Wert von 25% festgestellt (vergl. Abb. 1). Unter den Versuchsbedingungen steigt die Rate rasch bis auf eine Höhe von 67—83% an. Für die Kontrollkulturen fanden wir dagegen deutlich tiefere Werte (zwischen 50 und 60%). Warum diese Kontrollen ihre Reaktionsfähigkeit gegenüber der Ausgangslage (25%) so sehr verbessern konnten, bleibt ungeklärt. Für die beiden Bastardlinien lässt sich ein sehr klarer Selektionserfolg nachweisen. Der hohe Wert in der 1. Generation dürfte auf der teilweisen Dominanz von Hi-Genen beruhen (vergl. Schlegel-Oprecht, 1954). Von der 2. Generation an liegen die Werte deutlich tiefer; jetzt mendeln auch wieder Lx-ähnliche Genotypen heraus. Die Bastarde liegen daher zwischen den Elterngenotypen. Mit fortschreitender Selektion steigt die Abwehrfähigkeit annährend bis zur Höhe des Hi-

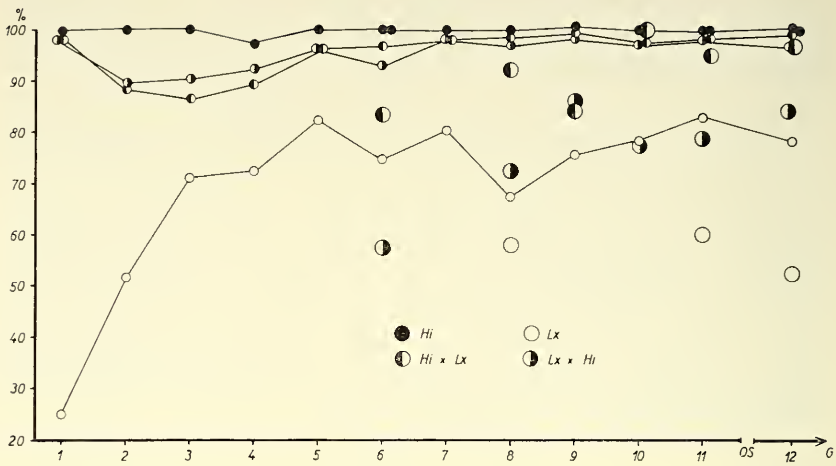



ABB. 3.

Gesamtraten der Reaktion (in %) der *Drosophila*-Stämme Hindelbank (Hi) und Luxor (Lx), sowie der reziproken Bastarde Hi × Lx und Lx × Hi. Grosse Einzelkreise bezeichnen die Reaktionsrate von den nicht unter Selektion stehenden Kontroll-Larven. Auf der Abszisse sind die Generationen (1-12 G) aufgetragen. OS = zwei Generationen ohne Selektion gezüchnet.

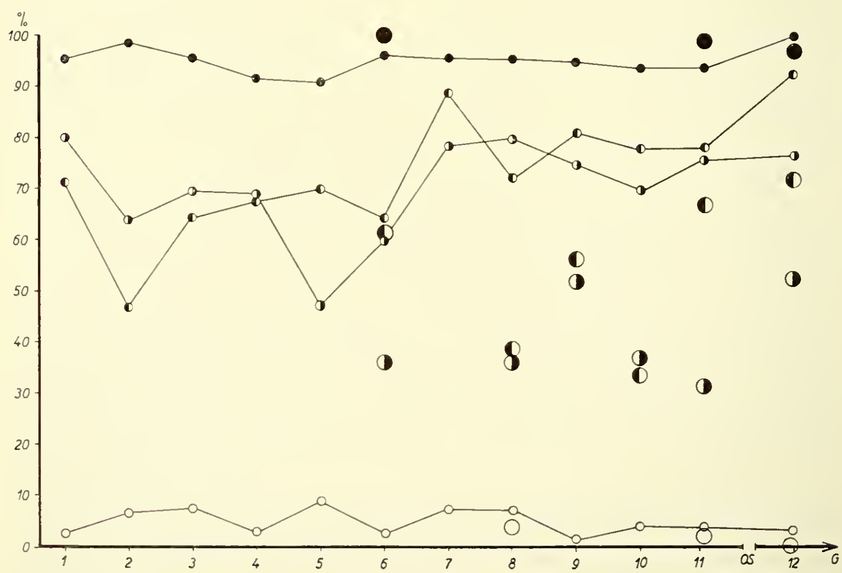



ABB. 4.

Kapselrate (in %). Darstellung und Symbole wie in Abb. 3.

Stammes an. Mit wenig Ausnahmen liegen die Kontrollwerte deutlich bis sehr weit unter den Werten der Selektionszuchten. Offensichtlich führte die Selektion zur Elimination von Lx-Genen.

Die Ergebnisse des Selektionsexperimentes in bezug auf die Kapselraten sind in Abb. 4 dargestellt. Der Hi-Stamm konnte, wie erwartet, kaum beeinflusst werden. Während der ganzen Beobachtungsdauer finden wir bei 90—100% der Drosophilalarven eine oder mehrere Kapseln.

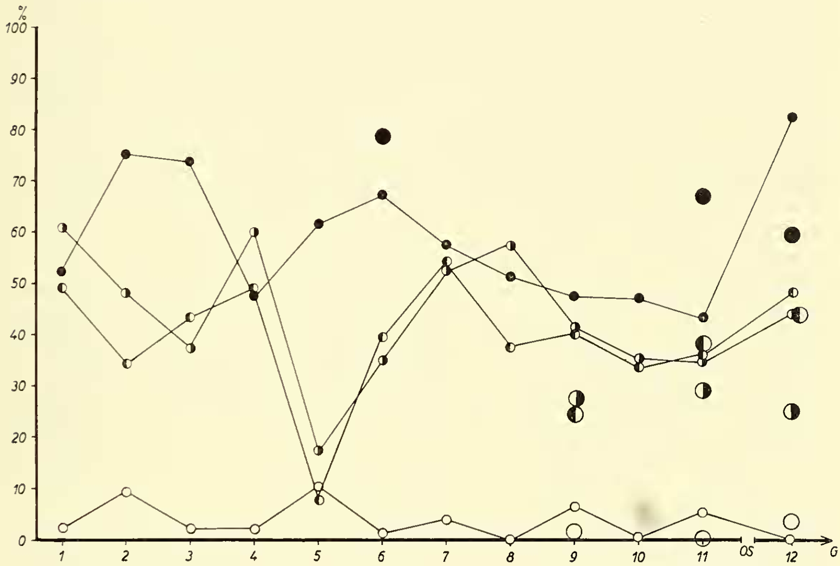



Abb. 5.
Erfolgreiche parasitierte Wirte in % aller parasitierten geschlüpften Fliegen und Wespen. Darstellung und Symbole wie in Abb. 3.

Bei Lx gelang es nicht, die Kapselrate zu steigern. In keiner Generation zeigten mehr als 10% der Larven diese Abwehrleistung. Da hier die Selektion wirkungslos blieb, muss man annehmen, dass für den Lx-Genetypus keine Möglichkeit besteht, bereits vorhandene „Gene für Kapselbildung" im Verlaufe von 12 Generationen anzureichern.

Eindeutige Selektionserfolge stellten sich dagegen für die beiden Bastardlinien ein. Wegen der Dominanz der Hi-Faktoren finden wir in der 1. Generation noch eine relativ hohe Kapselrate. Sie

sinkt dann von der 2.—6. Generation auf 60—70% ab. Dann erfolgt ein gut gesicherter Anstieg auf 72—92%. Dieses erhöhte Niveau wird von den Kontrollen, die zwischen 31% und 72% variieren, bei weitem nicht erreicht. Dieser Befund wird darauf beruhen, dass aus dem „Genpool" der Bastarde sich die Hi-Faktoren auf Kosten der Lx-Faktoren anreichern konnten.

Falls eine Fliegenlinie unter dem Selektionsdruck einer andauernden Parasitierung ihre Abwehrkraft erfolgreich erhöht, so müssten aus einer gegebenen Anzahl parasitierter Larven zunehmend mehr Fliegen und weniger Wespen schlüpfen. In der Abbildung 5 sind die diesbezüglichen Werte für die Fliegenschlüpfrate eingetragen. Wir haben dabei den Anteil der erfolgreichen Fliegen, die sich trotz Parasitierung entwickeln konnten, nach der auf S. 220 angegebenen Methode, d. h. unter Berücksichtigung des Parasitierungsgrades der Einzelkulturen berechnet.

Die Hi-Linien beginnen in der ersten Generation mit einem relativ tiefen Wert (um 50%). Dies beruht auf einer starken Überinfektion. In solchen Fällen können bei einem reaktionsstarken Fliegenstamm zwar fast alle paratisierten Larven eine oder mehrere Kapseln bilden, doch gelingt es ihnen selten, alle Parasiten erfolgreich einzuschliessen. Dann wird anstelle einer „erfolgreichen Fliege" eine Wespe schlüpfen. Von der 2. bis zur 11. Selektionsgeneration zeigt sich eine abfallende Tendenz. Eine eingehende statistische Analyse dieser Befunde steht noch aus. Wahrscheinlich hat die zunehmende Inzucht in der Selektionslinie zu einer Abnahme der Vitalität und damit der Schlüpfrate der Fliegen geführt. Für diese Interpretation spricht die Tatsache, dass die in Massenkulturen geführten Kontrollen (Generationen 6, 11) mehr erfolgreiche Fliegen liefern als die Selektionslinie. Da zwischen der 11. und 12. Selektionsgeneration nicht parasitierte Massenzuchten eingeschoben wurden, konnte sich offensichtlich auch der Selektionsstamm erholen.

Die beiden reziproken Bastardlinien verhalten sich weitgehend gleich. Das sehr starke Absinken der Fliegenschlüpfrate in der 5. Generation ist durch eine massive Überinfektion verursacht. Obschon die Kurven der Selektionslinien (9.—12. Generation) teilweise über den Kontrollen stehen, möchten wir vorläufig noch nicht auf einen Selektionserfolg schliessen. Eine Analyse dieser Daten soll einer weiteren Arbeit vorbehalten sein.

Für den Lx-Stamm konnte kein Anstieg der Schlüprate erwartet werden, weil auch die Kapselrate (Abb. 4) nicht verbessert wurde.


### *Summary.*

1. By a specially designed experiment we tried to improve the defense reaction of *Drosolphila melanogaster* against parasitism by the wasp *Pseudeucoila bochei.*

2. The following wild stocks of *Drosophila* were used: *a)* Hindelbank (Hi), which has a strong defense reaction, *b)* Luxor (Lx), very weak reaction, *c)* and *d)* the reciprocal hybrids Hi × Lx and Lx × Hi.

3. In Lx as well as in the two hybrid lines selection over 12 generations increased the formation of dispersed melanised lymphocytes (" pigment reaction ").

4. In the hybrid genotypes selection also led to an increase in the percentage of individuals in which the blood cells form protective capsules around the egg of the parasite.

5. Data are given for the number of " successful flies " which hatch in the different selected lines from parasitized *Drosophila* larvae.


## LITERATUR


Jenni, W. 1951. *Beitrag zur Morphologie und Biologie der Cynipide Pseudeucoila bochei Weld, eines Larvenparasiten von Drosophila melanogaster Meig.* Acta zool. 32: 177-254.

Schlegel-Oprecht, E. 1953. *Versuche zur Auslösung von Mutationen bei der zoophagen Cynipide Pseudeucoila bochei Weld und Befunde über die stammspezifische Abwehrreaktion des Wirtes Drosophila melanogaster.* Z. Vererbungslehre 85: 245-281.

Walker, I. 1959. *Die Abwehrreaktion des Wirtes Drosophila melanogaster gegen die zoophage Cynipide Pseudeucoila bochei Weld.* Rev. Suisse de Zool. 66: 569-632.